

**АВТОФАГИЯ В ФОРМИРОВАНИИ ОСТАТОЧНЫХ ТЕЛЕЦ  
В СПЕРМАТОГЕНЕЗЕ  
МОРСКИХ ЕЖЕЙ *STRONGYLOCENTROTUS INTERMEDIUS***

А. В. Калачев, О. В. Юрченко, Л. А. Глизнуца

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДО РАН, Владивосток, РФ, akalachev@imb.dvo.ru

Ультраструктурное исследование развивающихся сперматид в семенниках морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* показало, что в удалении резидуальной цитоплазмы принимают участие везикулы, морфологически сходные с автофагосомами. Эти везикулы сливаются друг с другом, формируя более крупную структуру. В дальнейшем, её содержимое конденсируется, и везикула отбрасывается от сперматиды в виде резидуального тела.

**Ключевые слова:** сперматогенез, сперматозоиды, остаточная цитоплазма, морские ежи, макроавтофагия

В ходе сперматогенеза мужские половые клетки проходят через ряд последовательных стадий, завершающихся формированием зрелых сперматозоидов. При этом в дифференцирующихся половых клетках формируются специализированные структуры, такие как акросома, жгут и кольцевая митохондрия, а излишки цитоплазмы отбрасываются в виде так называемых остаточных или резидуальных тел. Несмотря на то, что исследованию сперматогенеза у различных групп позвоночных и беспозвоночных животных посвящено большое количество работ (см. обзор [1]), ряд процессов, протекающих в развивающихся половых клетках остаётся слабо исследованным. В частности, мало известно о механизмах элиминации излишков цитоплазмы сперматидами. Целью данной работы является ультраструктурное описание формирования остаточных тел в ходе сперматогенеза у морских ежей *Strongylocentrotus intermedius*.

**Материал и методы.** Фрагменты семенников половозрелых морских ежей *Strongylocentrotus intermedius* префиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на какодилатном буфере (рН 7,4) с добавлением хлорида натрия (21 мг/мл) в течение 2-х часов при 4°C. После префиксации, фрагменты гонад промывали какодилатным буфером и постфиксировали 2% раствором тетроксид осмия при комнатной температуре. Зафиксированный таким образом материал промывался в дистиллированной воде и обезвоживался в этаноле возрастающей концентрации (30, 50, 70, 80 и 96%), смесях этанола и ацетона (3:1, 1:1 и 1:3) и чистом ацетоне. После обезвоживания материал заключался в аралдит-эпон. Ультратонкие срезы получали при помощи ультрамикротомы Leica UC 6 и окрашивали водными растворами уранил ацетата и цитрата свинца. Полученные препараты просматривали в электронном микроскопе Zeiss Libra 200FE.

**Результаты.** Ультраструктурное исследование показало, что в поздних сперматидеях у морских ежей *S. intermedius* часто отмечают небольшие вакуоли (0,5-0,7 мкм в диаметре), ограниченные двумя мембранами и содержащие чётко различимые фрагменты цитоплазмы (рис. 1А). Своей морфологией подобные вакуоли напоминают автофагосомы, образующиеся в ходе макроавтофагии. По мере развития сперматид происходит слияние этих вакуолей в более крупные, порядка 1,5-1,8 мкм в диаметре, в которых всё ещё различима как цитоплазма, так и мембранные компартменты (рис. 1В). Далее происходит конденсация содержимого этих вакуолей. В вакуолях формируются участки с электроно-плотными гранулами и участки средней электронной плотности с диспергированным содержимым (рис. 1С). В заключение вакуоли преобразуются в остаточные тела, представляющие собой ограниченные двойной мембранной структуры

около 1 мкм в диаметре, заполненные электронно-плотными гранулами, которые перемежаются с диспергированным материалом средней электронной плотности (рис. 1D).

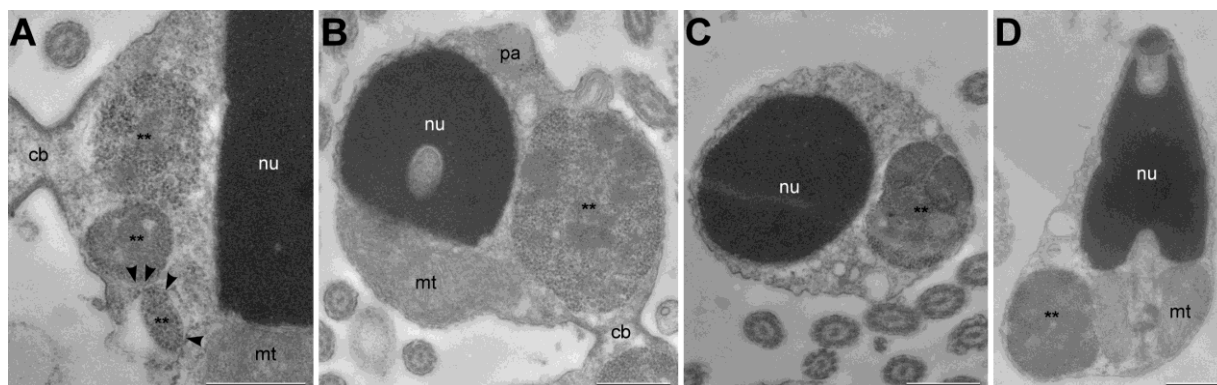


Рис. 1 *Strongylocentrotus intermedius*. Формирование остаточных тел в цитоплазме сперматид. А — начальные этапы формирования остаточного тела; В — вакуоль, образовавшаяся в результате слияния нескольких мелких вакуолей; С — начало конденсации содержимого остаточного тела; D — сперматозоид с остаточным телом. cb — цитоплазматические мостики, соединяющие половые клетки, nu — ядро, mt — митохондрия, pa — проакросомальная везикула. Звёздочками обозначены вакуоли, ограничивающие участки удаляемой цитоплазмы, наконечниками указана двойная мембрана. Масштаб: А, D — 2 мкм, В, С — 1 мкм.

На ультраструктурном уровне морфологическими признаками автофгосом являются двойные мембраны, окружающие участки цитоплазмы. Полученные данные позволяют предположить, что для ограничения участков цитоплазмы, которые будут удалены в ходе последующей дифференцировки гамет, может быть задействован механизм, сходный с макроавтофагией. Наше исследование демонстрирует вовлеченность макроавтофагии в процесс спермиогенеза морских ежей, а нарушение в механизме формирования автофагосом может вызывать нарушения в ходе нормального формирования сперматозоидов.

**Благодарности.** Работа выполнена на приборной базе ЦКП «Дальневосточный центр электронной микроскопии» при ИБМ ДВО РАН при поддержке гранта РФФИ № 15-04-06416.

1. Дроздов А.Л., Иванков В.Н. *Морфология гамет животных. Значение для систематики и филогенетики* — М.: Круглый год, 2000. 460 с.

## RESIDUAL BODIES FROMATION DURING SPERMATOGENESIS IN SEA URCHIS, *STRONGYLOCENTROTUS INTERMEDIUS*

A. V. Kalachev, O. V. Yurchenko, L. A. Gliznutsa

A.V. Zhirmusky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of RAS, Vladivostok, RF, kalachev@imb.dvo.ru

A fine structural study of developing spermatozoa in males *Strongylocentrotus intermedius* showed that a macroautophagy-like process is involved in residual cytoplasm reduction. During the process of spermatid development small autophagosome-like vesicles appear in cytoplasm of developing spermatids. These vesicles fuse to one another and make larger vesicle that is surrounded by double membrane. The contents of these vesicles get condense and the vesicles are discarded from maturing spermatozoa as residual bodies.

**Key words:** spermatogenesis, spermatozoa, residual cytoplasm, sea urchins, macroautophagy